

Elección femenina y tapones copulatorios en *Leucauge* (Araneae, Tetragnathidae)

Female choice and mating plugs in *Leucauge* (Araneae, Tetragnathidae)

Anita Aisenberg¹, Gilbert Barrantes² y William G. Eberhard^{2,3}

Laboratorio de Etología, Ecología y Evolución, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Avenida Italia 3318, Código Postal 11600, Montevideo, Uruguay; ²Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica; ³Smithsonian Tropical Research Institute.

Resumen. El género *Leucauge* comprende más de 100 especies de arañas que construyen telas orbiculares, y presenta una distribución geográfica muy amplia. El comportamiento reproductivo ha sido escasamente estudiado en este género. Los tapones copulatorios han sido observados en *L. mariana*, *L. venusta* y *L. argyra*. Analizamos el comportamiento sexual y formación de tapón en *L. mariana* y *L. argyra*. Para la formación de un tapón efectivo en *L. mariana*, que minimice las posibilidades de nuevos apareamientos, es necesario el aporte de sustancias por parte del macho y de la hembra. A mayor número ($\chi^2=20.3$, $p<0.0001$) y duración ($\chi^2=12.5$, $p<0.0001$) de empujones de las patas masculinas sobre las femeninas durante la cópula, mayores las posibilidades de que la hembra colabore en la formación de tapón en esta especie. En *L. argyra*, el tapón copulatorio estaría formado por sustancias transferidas mayoritariamente o exclusivamente por la hembra. En 10 casos en esta especie ($n=17$), uno de los palpos masculinos quedó pegado a la sustancia que emergía desde los ductos femeninos durante la cópula y el macho debió liberar su palpo mediante movimientos frenéticos y bruscos (dos casos finalizaron en canibalismo sexual por parte de la hembra). Se exponen los estudios más recientes de comportamiento sexual y morfología genital realizados en estas especies, que representan los primeros casos descritos de elección críptica femenina por formación de tapón copulatorio. Se proponen estudios futuros para este género que se muestra como promisorio para estudios de selección sexual.

Abstract . *Leucauge* genus includes more than 100 species of orb weaving spiders that show a widespread distribution. Reproductive behavior has been scarcely studied in this genus. Mating plugs have been observed in *L. mariana*, *L. venusta* and *L. argyra*. We analyzed sexual behavior and plug formation in *L. mariana* and *L. argyra*. In *L. mariana*, for the formation of an effective plug that reduces the chances of re-mating, females need to add substances to those substances transferred by males. A higher number ($\chi^2=20.3$, $p<0.0001$) and duration ($\chi^2=12.5$, $p<0.0001$) of male leg pushes on female legs during copulation, determined a higher probability that females collaborated in plug formation in this species. In *L. argyra*, copulatory plugs would be composed by substances produced in the majority or exclusively by females. In 10 cases in

this species (n=17), one of male palps got stuck into the substance that emerged from female ducts during copulation and the male had to struggle to free himself (two of these cases ended in sexual cannibalism by the female). We expose the most recent findings on sexual behavior and genital morphology of these two *Leucauge* species that represent the first descriptions of cases of cryptic female choice through plug formation. We propose future studies for this promising genus for sexual selection studies.

Tetragnathidae, el género *Leucauge* y los tapones copulatorios

La familia Tetragnathidae incluye alrededor de 1000 especies distribuidas en 51 géneros (Platnick 2013). Son arañas que construyen telas orbiculares, generalmente horizontales o inclinadas. Presentan quelíceros largos y conspicuos, que en muchas especies de esta familia son entrelazados por hembra y macho previo y durante el apareamiento (Eberhard y Huber 1998; Álvarez-Padilla *et al.* 2009). Se ha discutido que este acople de quelíceros podría permitir un mejor y más seguro anclaje de los machos a las hembras durante la cópula (Levi 1981; Kraus 1984). Sin embargo, los quelíceros y el acople entre ambos sexos es muy variable de una especie a otra y presenta marcadas diferencias morfológicas y comportamentales. En algunas especies es el macho quien rodea con sus quelíceros a la hembra hacia el inicio de la cópula, y en otras es la hembra quien encierra con sus quelíceros a los correspondientes del macho (Eberhard y Huber 1998). A su vez, algunas especies presentan dimorfismo sexual en los quelíceros, y un sexo, en general los machos, presenta setas u otras estructuras modificadas que sugieren que estos caracteres podrían estar moldeados por selección sexual. Las marcadas diferencias intra e inter-específicas podrían estar vinculadas con el grado de conflicto sexual, elección femenina y/ o posibilidades de canibalismo sexual en cada especie.

El género *Leucauge* White 1841 pertenece a la familia Tetragnathidae y a pesar de presentar más de un centenar de especies, ha sido escasamente estudiado en lo que respecta a su comportamiento sexual (Eberhard y Huber 1998). El cortejo copulatorio es frecuente en el género (Castro 1995; Eberhard y Huber 1998). Se ha observado la existencia de tapones copulatorios en al menos tres especies de *Leucauge*: *L. mariana* (Keyserling 1881), *L. venusta* (Walckenaer 1841) y *L. argyra* (Walckenaer 1841) (Castro 1995; Eberhard y Huber 1998). El acople de quelíceros entre hembra y macho ocurre previo al apareamiento y tanto en *L. mariana* como en *L. argyra*, es la hembra quien rodea con sus quelíceros a los correspondientes del macho (Aisenberg 2009; Aisenberg y Eberhard 2009; Aisenberg y Barrantes 2011).

Los tapones copulatorios han sido descritos tanto en vertebrados, como mamíferos, aves y reptiles, e invertebrados (insectos y arácnidos) (Leonard y Córdoba-Aguilar 2010; Uhl *et al.* 2010). En general los tapones copulatorios están compuestos por esperma, espermatóforos, productos glandulares, y/ o partes de genitalia masculina (Uhl *et al.* 2010). Se considera que los tapones copulatorios funcionarían para prevenir o reducir las posibilidades de apareamiento futuras de la hembra. A su vez, podrían tener otras funciones como prevenir el desecamiento de

esperma dentro del tracto femenino, minimizar la pérdida de esperma, o prevenir infecciones genitales (Boorman y Parker 1976; Huber 1995, 2005; Simmons 2001; Uhl *et al.* 2010). En general, los tapones consisten de productos o partes de genitalia depositados por los machos, por ambos sexos, o en algunos casos exclusivamente por las hembras (Uhl *et al.* 2010). Estudios previos realizados en *L. mariana* sugerían que los tapones copulatorios en esta especie estaban formados por una sustancia transferida por los machos a la cual se adicionaba una sustancia producida por las hembras (Méndez 2004). El comportamiento sexual y la formación de tapones copulatorios en *L. argyra* nunca había sido analizado en detalle. Así, nuestros objetivos fueron realizar observaciones en detalle del comportamiento de cortejo y cópula en *L. mariana* y *L. argyra*, y poner a prueba si el comportamiento de cortejo copulatorio masculino se vincula con la formación de tapón en estas especies.

Elección críptica femenina mediante formación de tapón en *Leucauge mariana*

Las hembras son capaces de afectar el éxito de paternidad masculino mediante diversos procesos comportamentales, morfológicos y fisiológicos que se dan luego de iniciada la cópula (Eberhard 1996). La elección de las hembras sobre determinados caracteres masculinos realizada durante y luego del apareamiento se conoce como elección críptica femenina (Eberhard 1996). El cortejo copulatorio, o cortejo realizado por el macho durante la cópula, resultaría de la acción de la selección sexual por elección críptica femenina y podría tener la función de inducir una baja en la receptividad sexual femenina luego del apareamiento (Eberhard 1985, 1996). Existe un listado con más de 20 mecanismos posibles por los cuales las hembras pueden optar por favorecer la paternidad de un macho determinado sobre otro (Eberhard 1996), pero muy pocos de estos mecanismos han sido demostrados como vías de elección críptica femenina.

Leucauge mariana es una araña constructora de telas orbiculares muy frecuente en los bosques tropicales de altitud moderada en Costa Rica (Méndez 2004). En esta especie, los machos penúltimos realizan guardia de las hembras cercanas a su muda de adultez. Existe competencia macho-macho por el acceso a las hembras y se han observado tapones copulatorios cubriendo total o parcialmente la genitalia de las hembras (Eberhard *et al.* 1993; Eberhard y Huber 1998). La cópula en *L. mariana* incluye dos tipos de inserciones palpare: largas y cortas. Las inserciones largas implican una única inserción con muchas infladas de la hematodocha, a diferencia de las inserciones cortas que implican una única inflada por inserción palpar. Las fallas en las inserciones palpare (flubs) son frecuentes en esta especie (Aisenberg y Eberhard 2009). Los tapones copulatorios en esta especie estarían formados por una sustancia transferida por el macho durante las inserciones palpare cortas, a la cual la hembra adicionaría (o no) una sustancia propia, que es necesaria para la producción de un tapón genital efectivo (Eberhard y Huber 1998; Méndez 2004).

Se realizaron experimentos en condiciones de laboratorio en los que se expusieron cada una de cuarenta y tres hembras vírgenes de *L. mariana* ante un macho (Aisenberg 2009; Aisenberg

y Eberhard 2009). Las hembras fueron capturadas en el campo como subadultas cercanas a su muda adulta, reconocidas porque presentaban machos en su tela realizando guardia (Eberhard *et al.* 1993). En los días 0-5 se expuso cada hembra con un macho y se registró en detalle el cortejo, la cópula y la formación de tapón copulatorio inmediatamente luego de la cópula y 24 horas después. Se encontró que a mayor número ($\chi^2=20.3$, $p<0.0001$) y duración ($\chi^2=12.5$, $p<0.0001$) de empujones de las patas masculinas sobre las femeninas durante la cópula, mayores las posibilidades de que la hembra colaborara en la formación de tapón. Por lo tanto, se encontró que el comportamiento de cortejo copulatorio masculino de empujones en las patas afectó positivamente la decisión femenina de segregar la sustancia para la formación del tapón (Aisenberg 2009; Aisenberg y Eberhard 2009).

Los tapones como trampas mortales en *Leucauge argyra*

Leucauge argyra es una araña constructora de tela orbiculares que es frecuente en zonas bajas y húmedas de Costa Rica (Eberhard 2001). Con *L. argyra* se procedió de manera similar a la anteriormente descrita para *L. mariana* (Aisenberg y Barrantes 2011). Se expuso cada una de 14 hembras vírgenes y 12 hembras encontradas en el campo con tapón copulatorio ante un macho, y se registraron las características de cortejo, cópula y la existencia de tapón inmediatamente y 24 hs luego de la cópula. De las 14 hembras vírgenes, doce aceptaron la cópula y nueve produjeron tapón copulatorio; en cambio, de las doce hembras con tapón copulatorio, solamente cinco se aparearon y todas éstas formaron tapón inmediatamente luego de finalizado el apareamiento (Aisenberg y Barrantes 2011). En los casos en los cuales ocurrió la cópula, los tapones no fueron removidos sino perforados por área distal del conductor del palpo del macho. La formación de tapón mostró correlación positiva con un comportamiento masculino realizado durante el cortejo (male twanging) de tensión y afloje con la pata III de los hilos de la tela que conectan al macho con la hembra (Aisenberg y Barrantes 2011).

La cópula en esta especie, a diferencia de *L. mariana*, incluye exclusivamente inserciones palpaes largas, con múltiples infladas de la hematodocha, y las fallas en la inserción son infrecuentes (Aisenberg y Barrantes 2011). No se detectó la transferencia de ninguna sustancia por parte del macho durante la cópula pero sí se observó la aparición de una sustancia emergiendo desde los ductos femeninos. Esta sustancia estaba formada mayoritariamente por una matriz y, en cantidades muy pequeñas, esperma encapsulado o descapsulado (Barrantes *et al.* 2013). Con respecto al momento de la aparición de la sustancia femenina emergiendo desde la apertura de los ductos en el epigino, en 10 casos ($n=17$), uno de los palpos masculinos quedó pegado a la sustancia que emergía desde los ductos femeninos durante la cópula y el macho debió liberar su palpo mediante movimientos frenéticos y bruscos. Dos de estos casos finalizaron con canibalismo sexual por parte de la hembra (Aisenberg y Barrantes 2011).

El presente caso se trata del primero sobre uso del tapón copulatorio como una trampa pegajosa para machos. Las hembras de *L. argyra* podrían estar modulando la duración de la cópula

mediante la producción de una sustancia pegajosa, posiblemente precursora del tapón copulatorio en esta especie.

Direcciones para estudios futuros

En un estudio reciente (Barrantes *et al.* 2013) comparamos la genitalia de ambos sexos en *L. mariana* y *L. argyra*, a la luz de sus diferencias en el comportamiento sexual y de formación de tapón. En *L. argyra*, a diferencia de *L. mariana*, tanto el macho como la hembra poseen estructuras genitales especializadas que difieren marcadamente de lo descrito para este género (Levi 2008; Álvarez-Padilla y Hormiga 2011). El palpo masculino posee una estructura en forma de gancho dirigido dorsalmente en el margen anterior-dorsal del cymbium. Esta estructura parece ser una macro-seta modificada (Álvarez-Padilla y Hormiga 2011). Mientras se introduce el émbolo y se transfiere esperma en uno de los dos orificios de inseminación del epigino, esta macro-seta se introduce simultáneamente en la apertura del otro orificio de inseminación (Barrantes *et al.* 2013). Por tanto, esta estructura masculina modificada podría estar involucrada en estimulación femenina y en brindar un anclaje más eficiente para el macho durante el apareamiento. Estas hipótesis serán puestas a prueba en futuros estudios.

Por otra parte, las hembras adultas de *L. argyra* poseen un proceso ventral a modo de cono o promontorio en la zona central posterior del epigino. Dicho proceso ventral está cubierto por largas setas en su cara anterior y hasta su extremo. Estas setas podrían estar involucradas en procesos de elección críptica femenina (Caballero *et al.*, en preparación).

Finalmente, considerando la gran cantidad de especies y todo lo que se desconoce en lo que respecta a comportamiento sexual en este género, *Leucauge* surge como un género muy auspicioso para estudios de elección críptica y tapones copulatorios.

Literatura citada

- AISENBERG, A. 2009. Male performance and body size affect female re-mating occurrence in the orb web spider *Leucauge mariana* (Araneae, Tetragnathidae). *Ethology* 115: 1127-1136.
- AISENBERG, A.; BARRANTES, G. 2011. Sexual behavior, cannibalism and mating plugs as sticky traps in the orb weaver spider *Leucauge argyra* (Tetragnathidae). *Naturwissenschaften* 98: 605-613.
- AISENBERG, A.; EBERHARD, W. G. 2009. Possible cryptic female choice in a spider: female cooperation in making a copulatory plug depends on male copulatory courtship. *Behavioral Ecology* 20: 1236-1241.
- ÁLVAREZ-PADILLA, F.; DIMITROV, D.; GIRIBET, G.; HORMIGA, G. 2009. Phylogenetic relationships of the spider family Tetragnathidae (Araneae, Araneoidea) based on morphological and DNA sequence data. *Cladistics* 25: 109-146.
- ÁLVAREZ-PADILLA, F.; HORMIGA, G. 2011. Morphological and phylogenetic atlas of the orbweaving spider family Tetragnathidae (Araneae: Araneoidea). *Zoological Journal of the Linnean Society* 162: 713-879.

- BARRANTES, G.; AISENBERG, A.; EBERHARD, W. G. 2013. Functional aspects of genital differences in *Leucauge argyra* and *L. mariana* (Araneae, Tetragnathidae). *Journal of Arachnology* 41: 59-69.
- BOORMAN, E.; PARKER, G. A. 1976. Sperm (ejaculate) competition in *Drosophila melanogaster*, and the reproductive value of female of remating to male in relation to female age and mating status. *Ecological Entomology* 1: 145-155.
- CASTRO, T. J. 1995. Estudio comparativo del comportamiento reproductor, en las arañas del género *Leucauge* (Araneae: Tetragnathidae), del Soconusco, Chiapas. Graduate Thesis, Universidad de Ciencias y Artes del Estado de Chiapas, México.
- EBERHARD, W. G. 1985. Sexual Selection and animal genitalia. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- EBERHARD, W. G. 1996. Female control: sexual selection by cryptic female choice. Princeton University, Princeton, New Jersey.
- EBERHARD, W. G. 2001. Under the influence: webs and building behavior of *Plesiometa argyra* (Araneae, Tetragnathidae) when parasitized by *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *Journal of Arachnology* 29: 354-366.
- EBERHARD, W. G.; GUZMÁN-GÓMEZ, S.; KATLEY, K. 1993. Correlation between genitalic morphology and mating systems in spiders. *Biological Journal of the Linnean Society* 50: 197-209.
- EBERHARD, W.G.; HUBER, B. A. 1998. Courtship, copulation and sperm transfer in *Leucauge mariana* (Araneae, Tetragnathidae) with implications for higher classification. *Journal of Arachnology* 26: 342-368.
- HUBER, B. A. 1995. The retrolateral tibial apophysis in spiders—shaped by sexual selection? *Zoological Journal of the Linnean Society* 113: 151-163.
- HUBER, B. A. 2005. Sexual selection research on spiders: progress and biases. *Biological Reviews* 80: 363-385.
- KRAUS, O. 1984. Male spider genitalia: evolutionary changes in structure and function. *Verh Hamburg* 27: 373-382.
- LEONARD, J. L.; CÓRDOBA-AGUILAR, A. 2010. The evolution of primary sexual characters in animals. Oxford University Press, USA.
- LEVI, H. W. 1981. The American orb-weaver genera *Dolichognatha* and *Tetragnatha* North of Mexico (Araneae: Araneidae, Tetragnathinae). *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 149: 271-318.
- LEVI, H. W. 2008. The tetragnathid genera *Alcimosphenus*, *Leucauge*, *Mecynometa* and *Opas* (Araneae: Tetragnathidae). *Journal of Arachnology* 36: 167-170.
- MÉNDEZ, V. 2004. Comportamiento sexual y dinámica de población de *Leucauge mariana* (Araneae: Tetragnathidae). MSc Thesis, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
- PLATNICK, N. P. 2013. The world spider catalog, versión 13.5. <http://research.amnh.org/iz/spiders/catalog/INTRO3.html>
- SIMMONS, L. W. 2001. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- UHL, G.; NESSLER, S. H.; SCHNEIDER, J. M. 2010. Securing paternity in spiders? A review on occurrence and effects of mating plugs and male genital mutilation. *Genetica* 138:75-104